

Dr. Szekeres Júlia, az orvostudomány doktora

Egyetemi tanár

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar

Orvosi Biológiai Intézet és Központi Elektronmikroszkópos Laboratórium

**Válasz Szekeres Júlia Professzor asszony részére az „Asztma terhességben”
című MTA doktori értekezésemről készített bírálatára**

Hálásan köszönöm Professzor asszonynak, hogy elvállalta doktori értekezésem bírálatát. Köszönöm az ezzel töltött idejét és munkáját, elismerő szavait, építő kritikai megjegyzéseit, a munka gyakorlati értékének összefoglalását, valamint az új eredmények elfogadását.

Köszönöm továbbá gondolatébresztő kérdéseit, melyekre a következőket válaszolom:

- 1. A terhesség során az asthmás tünetek az esetek harmadában súlyosbodnak, harmadában enyhülnek, további harmadában pedig változatlanok maradnak. Feltételezem, hogy amikor ezt az egyharmados szabályt megalkották, az allergiás és a nem allergiás eredetű asthmát egységes csoportként kezelték. A terhesség alatt kialakuló Th2 dominancia alapján az lenne várható, hogy az allergiás eredetű asthma súlyosodik, a nem allergiás eredetű pedig nem. Van-e olyan tanulmány, ahol ezt a két csoportot külön vizsgálják? Van-e különbség az allergiás és nem allergiás eredetű terhesség alatti asthma kezelési sémáiban?*

Az asztma valóban alapvetően két fenotípusú lehet: 1.) a gyakoribb allergiás eredetű Th2-domináns (eozinofil), gyermek/fiatal felnőtt életkorban kezdődő betegség (típusos példái az allergiás/extrinsic, terhelés indukálta vagy később kialakuló súlyos eozinofil asztma); 2.) a nem-Th2, inkább Th17-domináns (neutrofil) és idősebb életkorban kezdődő betegség (típusos példái a neutrofil asztma, obezitás- vagy dohányzás-asszociált betegség) (Wenzel SE. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. Nat Med. 2012;18(5):716-25). Részben a Th2-domináns formák gyakoribb előfordulása miatt, részben pedig amiatt,

hogy általában az allergiás asztma alakul ki a fogamzóképes életkorig, ritkábban kerül sor nem Th2-mediált betegség kezelésére a terhesség során.

A klinikai képet a terhesség alatt követő kutatások az asztmát rendre egységes csoportként vizsgálták, nem tettek különbséget allergiás és nem allergiás asztma között (Schatz M et al. The course of asthma during pregnancy, post partum, and with successive pregnancies: a prospective analysis. *J Allergy Clin Immunol.* 1988;81:509-17), vagy döntően allergiás betegeket vontak be (Gluck JC et al. The change of asthma course during pregnancy. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2004;26(3):171-80). A terhesség alatt az asztma tünetváltozását egyébként az esetek többségében a szintén Th2-mediált szénanátha tüneteinek változása is követi (Kircher S. Variables affecting asthma course during pregnancy. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2002;89(5):463-6). A nem allergiás, általában tünetesebb, de ritkábban és a későbbi életkorban előforduló betegség terhesség alatti viselkedéséről rendszerezett, pontos adatok sajnos nincsenek, saját tanulmányainkba is allergiás asztmás betegek kerültek bevonásra.

A Th2-dominált terhesség és asztma esetében valóban felmerül, hogy az allergiás fenotípus romlana inkább a graviditás során. A képet azonban árnyalja, hogy egy korábbi vizsgálatunkban allergiás asztmás várandósok esetében nagy számban észleltünk perifériás Th1 és Th2 sejteket, és mindkét sejtcsoport aránya és a légzésfunkció között negatív korrelációt igazoltunk. Asztmás terhességben nem volt megfigyelhető az egészséges terhességhez (vagy nem terhes asztmásokhoz) képest további, additív Th2 sejtarány növekedés, tehát az asztma és terhesség által okozott perifériás sejtimmunológiai változások nem „adódtak össze” (Tamási L et al. Increased interferon gamma- and interleukin-4-synthesizing subsets of circulating T lymphocytes in pregnant asthmatics. *Clin Exp Allergy* 2005;35(9):1197). Másrészt, asztmában a légúti gyulladás szabályzásában a Th1 és Th2 sejtek mellett a Treg és Th17 sejttípusok is részt vesznek; felmerül, hogy míg az atópia kialakulásában, a betegség kezdetén a Th1/Th2 egyensúlyvesztés az alapvető, a régen fennálló asztma tüneteinek fokozódásában allergiás asztma esetén is szerepe van a Th17/Treg egyensúlyvesztésnek (Cosmi L et al. Th17 cells: new players in asthma pathogenesis. *Allergy* 2011; 66(8):989–998). Saját, allergiás asztmásokat bevonó tanulmányunk alapján a Treg/Th17 arány asztmás terhességben eltér a fiziológiástól. Felmerül, hogy nem allergiás eredetű, döntően Th17 mediált fenotípus esetén is befolyásolhatja a terhesség az asztma lefolyását – erre azonban jelenleg pontos adatok nem állnak rendelkezésre.

Az asztma kezelésének irányelve alapvetően megegyezik allergiás és nem allergiás eredet esetén, így van ez a graviditás során is. Alapját az inhalációs kortikoszteroid terápia jelenti,

amely a légúti gyulladás csökkentésében hatékony mind extrinsic/allergiás, mind intrinsic fenotípus esetén (az eozinofil sejtek, mint szteroid-érzékeny legfontosabb effektor sejtek mind allergiás, mind egyéb ok által kiváltott asztmás tünetek esetében jelen vannak; a szteroid-érzékenység mértéke eltérhet) (www.ginasthma.org, Holtzman MJ et al. The role of airway epithelial cells and innate immune cells in chronic respiratory disease. Nat Rev Immunol. 2014;14(10):686-698). Amennyiben – nagyon ritkán – biológiai terápia alkalmazására kerül sor a terhesség alatt, úgy (hasonlóan a nem terhesek kezeléséhez) omalizumab adására csak perreniális allergia, IL-5 gátlóra pedig perifériás eozinofília kimutathatósága esetén kerülhet sor (www.ginasthma.org).

2. *A disszertációban vizsgált beteganyag - ha jól értem a 47. oldalon leírtakat, kizárólag allergiás asztmás betegekből állt. Ezekben a nőkben a Th1/Th2 arány ugyan ugyanúgy változik, mint normális terhességben, de a normális terhességben tapasztalható regulátor T sejtszám emelkedés elmarad, a Th17 magasabb, a TC és NK sejtek aránya pedig magasabb, mint normális terhességben. Jó lett volna bevonni a vizsgálatba összehasonlításként egy olyan asztmás terhes csoportot is, akikben allergiás háttér nem mutatható ki. Milyen arányban fordulnak elő az asztmás betegek között allergiás és nem allergiás háttérű esetek?*

Az asztmás felnőtt populáció hazánkban 305 000 beteget jelent, a nyilvántartott allergiás és nem allergiás háttérű esetek aránya 2/3-1/3 (Korányi Bulletin 2017; www.koranyi.hu). A nemzetközi adatok a nem allergiás asztma előfordulási gyakoriságát 10-33%-nak adják meg (Peters SP. Asthma phenotypes: nonallergic (intrinsic) asthma. J Allergy Clin Immunol Pract. 2014;2:650-2). A nők aránya a teljes felnőtt betegpopuláció kb. 60%-át teszi ki, és a fogamzóképes korosztályban (összes nőbeteg kb. 30%-a) a nem allergiás háttérű betegség ritkábban, idősebbeknél pedig gyakrabban fordul elő (<https://statistics.blf.org.uk/asthma>, deNijs SB et al. Adult-onset asthma: is it really different? Eur Respir Rev. 2013;22(127):44-52). Fiatal, fogamzó képes korban tehát jóval ritkább a nem Th2-mediált asztma, bár kétségtelenül előfordul, és ambulanciánkon esetenként találkozunk nem allergiás terhes asztmásokkal (azonban az ő adataikat eddig nem elemeztük). Vizsgálatainkba enyhe vagy közép súlyos, legalább 6 hónapja diagnosztizált perzisztáló allergiás asztmásokat vontunk be. Kizárási kritériumok voltak a dohányzás, bármely krónikus betegség a szénanáthán kívül, akut asztma exacerbáció vagy 3 héten belüli akut fertőzés, 6 héten belüli szisztémás kortikoszteroid kezelés. A betegcsoportot annak érdekében karakterizáltuk ilyen mértékig,

hogy az asztma okozta változásokat detektálni tudjuk annak ellenére, hogy a betegek döntő többsége kezelt és megfelelően kontrollált volt (tehát fulmináns asztma-asszociált immunfolyamatok észlelésére nem számíhattunk). Így próbáltuk kizárni, hogy egyéb folyamatok befolyásolják a sejtimmunológiai képet, vagy a kezelés hatása miatt „elhalványuljanak” az egészséges terhességhez képest meglévő különbségek. Valóban jó lett volna azonban a sejtarányokat meghatározni/elemezni nem allergiás háttérű asztmások esetében is a terhesség során; az irodalom ilyen jellegű adatokat nem tartalmaz, így a Bíráló véleményét köszönve, a továbbiakban mindenképpen tervezünk ilyen vizsgálatot.

3. *A 13. ábra azt mutatja, hogy a frakcionált kilégzett NO szintje az asthmás állapotra jellemző, amire a terhesség nincs hatással. Ennek fényében nem meglepő, hogy egyik vizsgált keringő lymphocyta populáció aránya sem mutatott összefüggést ennek értékével.*

A terhesség valóban nem befolyásolja a frakcionált kilégzett NO (FENO) szintet, asztmás terhességben pedig a FENO érték – hasonlóan a nem terhes asztmásokéhoz – magasabb. A FENO és a Th1, Th2, Treg, illetve NK sejtpopulációk arányának esetleges összefüggését asztmás terhességben azért vizsgáltuk mégis, mert egy korábbi vizsgálat asztmában (terhesség nélkül) a FENO és a perifériás T sejt profil (a FENO és Th2 sejtarány) összefüggését írta le, ezzel felvetve az asztma légúti markere és a keringő immunológiai háttér direkt kapcsolatát (Shirai T et al. Correlation between peripheral blood T-cell profiles and airway inflammation in atopic asthma. J Allergy Clin Immunol 2006;118(3): 622-626). Asztmás terhességben azonban a FENO és a keringő Th2, Th1, Treg, NK sejtarányok összefüggését nem sikerült igazolnunk annak ellenére, hogy a vizsgált esetszám és betegség súlyosság hasonló volt a Shirai és mtsai által végzett vizsgálatéhoz.

Mindazonáltal – tekintettel arra, hogy maga a terhesség nincs hatással a FENO-ra, továbbá az asztmás terhesség korábbi eredményeink alapján nem jár additív, kumulálódó Th2 válasszal (Tamási L et al. Increased interferon-gamma- and interleukin-4-synthesizing subsets of circulating T lymphocytes in pregnant asthmatics. Clin Exp Allergy 2005;35(9):1197) –, valóban nem volt várható asztmás terhességben szoros összefüggés a FENO és a főbb lymphocyta populációk (pl. Th2) keringő aránya között.

4. *A szerző a 23. táblázatban foglalja össze a peripheriás lymphocyta szubpopulációk arányának változásait. Ebben a táblázatban a Th2 sejtekre jellemző legfontosabb*

fiziológiás funkciót pro-inflammatorikusként határozza meg. Véleményem szerint ez túlzott egyszerűsítés, és ebben a formában nem felel meg a valóságnak. Igaz ugyan, hogy a Th2 túlsúly szerepet játszik a fokozott IgE termelésben és az eosinophil gyulladás kialakulásában, azonban a Th2 sejtek és cytokinek hatása általában inkább anti-inflammatorikus.

Egyetértek a Bírálóval, a 23. táblázatban a Th2 sejtek szerepét pro-inflammatorikusnak megjelölve túlzott egyszerűsítéssel éltem, a Th2 sejtek szerepét csak az asztma patomechanizmusa tekintetében vettem figyelembe, számos egyéb ismert hatásukat figyelmen kívül hagyva. A 4. táblázatban – hasonló szövegkörnyezetben – megjelöltem, hogy a Th2 válasz az *eozinofil gyulladás* szempontjából tekintethető pro-inflammatorikusnak, azonban ez a pontosítás a 23. táblázatból kimaradt, ezért elnézést kérek.

Pro-inflammatorikus válaszként elsősorban a Th1 és Th17 válasz említhető. A Th1 immunitás az IFN- γ , IL-2 és egyéb proinflammatorikus citokin termelés révén stimulálja az antimikrobiális adaptív immunválaszt, és végső soron lehetővé teszi a fertőzések eliminációját (Sallusto F et al. Chemokines and chemokine receptors in T-cell priming and Th1/Th2-mediated responses. Immunol Today 1998;19:568–574). A Th17 sejtek IL-17, IL-22, IL-23 termelésükkel, elsősorban a veleszületett immunitás mobilizálásával indukálnak döntően neutrofil gyulladást (Bettelli E et al. Induction and effector functions of T(H)17 cells. Nature 2008;453:1051–1057).

A Th2 válasz azonban valóban inkább anti-inflammatorikus, hiszen gátolja a két pro-inflammatorikus választ, a Th1 (Sallusto F et al. Chemokines and chemokine receptors in T-cell priming and Th1/Th2-mediated responses. Immunol Today 1998;19:568–574) és a Th17 immunitást (Stumhofer JS et al. Negative regulation of Th17 responses. Semin Immunol 2007;19:394–399). Továbbá, a Th2 válasz több autoimmun betegség (pl. rheumatoid arthritis, autoimmun bélbetegségek) tekintetében szuppresszív szerepet tölt be, gátolva a kórfejlődést (Skapenko A et al. The role of the T cell in autoimmune inflammation. Arthritis Res Ther. 2005;7:S4-14, Tabarkiewicz J et al. The Role of IL-17 and Th17 Lymphocytes in Autoimmune Diseases. Arch Immun Ther Exp 2015;63:435–449). Végül, az egészséges terhességre jellemző Th2 dominancia is az immuntolerancia része, hiszen az inkább anti-inflammatorikus Th2 válasz dominál a pro-inflammatorikus, magzatra veszélyesebb Th1 válasz helyett. A Th2 típusú immunitást a humorális immunválasz felé tolódás jellemzi, míg a magzatot jobban veszélyeztető, Th1 mediált celluláris válasz a graviditás alatt gyengébb. A terhességre jellemző fiziológiás Th2 dominancia például, anti-inflammatorikus hatásának köszönhetően,

javítja az autoimmun eredetű rheumatoid arthritis tüneteit (Da Silva JA et al. The role of pregnancy in the course and aetiology of rheumatoid arthritis. Clin Rheumatol. 1992;11(2):189-94). Asztmában viszont a Th2 sejtek az allergiás gyulladás motorjaként szerepelnek, IL-4, IL-5, IL-13 termelésük révén serkentik az IgE szintézist, részt vesznek az eozinofil sejtes gyulladás kialakulásában és fenntartásában (Kay AB. The role of T lymphocytes in asthma. Chem Immunol Allergy 2006; 91:59–75).

Összefoglalva tehát, a Th2 válasz általánosságban valóban anti-inflammatorikus, és csak az eozinofil gyulladás, pl. asztma patomechanizmusa szempontjából tekinthető pro-inflammatorikusnak. Helyes lett volna ezért a 23. táblázatban a Th2 választ az eozinofil gyulladás tekintetében pro-, egyébként anti-inflammatorikusként megjelölni.

5. A 23. táblázatban az egészséges terhességhez képest legszembetűnőbb eltérés a Treg/Th17 arány változása. Kérdés, hogy a perifériás vérben mérhető sejtszám arányok mennyire tükrözik a lokális változásokat? Nyilvánvalóan, etikailag nem indokolható terhes asszonyokban bronchosopia végzése a lokális történések vizsgálatához szükséges anyag nyerése céljából, azonban lehetséges, hogy indukált köpetből sikerülne elegendő számú sejtet nyerni ennek a kérdésnek a tisztázására. Van esetleg erre vonatkozó információ a szakirodalomban?

Kutatásaink során csak a teljesen nem-invazív módon gyűjthető perifériás vér került elemzésre, bronchosopia etikai, biztonságossági okokból nem történt terhességben. Az asztmás légúti gyulladás tanulmányozására azonban valóban a lokális, alsólégúti minta az optimális. Korai vizsgálatok ugyan arra utaltak, hogy nem csupán a hörgőmosó folyadékban, hanem a perifériás vérben mérhető aktivált T lymphocytá arány is korrelál a betegség aktivitásával (Walker C. Activated T cells and eosinophilia in bronchoalveolar lavages from subjects with asthma correlated with disease severity. J Allergy Clin Immunol. 1991;88(6):935-42), de az alsólégúti és perifériás sejtarányok összefüggése nem egyértelmű.

Az indukált köpet gyűjtése szemi-invazív metódus, és mindenképpen pontosabb képet ad az alsólégutak folyamatairól mint a perifériás vér; azonban gyűjtése hörgőgörcsöt válthat ki és fokozza a bronchialis hyperreaktivitást, különösen, ha nem izotóniás, hanem hypertóniás sóoldat inhalációjával történik, vagy ha a beteg nagyobb mennyiségben használt rohamoldót a vizsgálat előtt (Djukanović R et al. Standardised methodology of sputum induction and

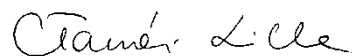
processing. Eur Respir J Suppl. 2002;37:1s-2s, Pizzichini E. Safety of sputum induction. Eur Respir J Suppl. 2002;37:9s-18s). Saját tapasztalataink alapján az asztmások 10-20%-ában kell hörgőgörcsrel számolni indukált köpet gyűjtésekor.

Egészségesekben az indukált köpet kb. 1%-ban tartalmaz lymphocytát (Luo W et al. Reference value of induced sputum cell counts and its relationship with age in healthy adults in Guangzhou, Southern China. Clin Respir J. 2017 May 2. doi: 10.1111/crj.12645). Asztmások esetében leginkább epitheliális sejteket, makrofágokat, eozinofil, valamint – fenotípustól függően - neutrofil sejteket tartalmaz, a lymphocytá arány alacsony és ritkán vizsgált (Demarche S et al. Detailed analysis of sputum and systemic inflammation in asthma phenotypes: are paucigranulocytic asthmatics really non-inflammatory? BMC Pulm Med. 2016;16:46). Az utóbbi időben viszont történtek lymphocytá szubpopuláció vizsgálatok indukált köpetből, és - ugyan más szubpopulációt vizsgálva - azt igazolták, hogy a vizsgált populáció aránya a köpetben és keringésben azonos irányban változik (Chen R et al. Allergen-induced Increases in Sputum Levels of Group 2 Innate Lymphoid Cells in Asthmatic Subjects. Am J Respir Crit Care Med. 2017 Apr 19. doi: 10.1164/rccm.201612-2427OC, Smith SG et al. Increased numbers of activated group 2 innate lymphoid cells in the airways of patients with severe asthma and persistent airway eosinophilia. J Allergy Clin Immunol. 2016;137(1):75-86.e8). Továbbá, egy közelmúltban történt vizsgálatban 60 enyhe/mérsékelt súlyos/súlyos asztmás és 24 egészséges egyén esetében történt bronchoscopos, indukált köpet és perifériás vér mintavétel. Eredményeik alapján alapvetően hasonló irányú változás volt tapasztalható a Th2, Treg és Th17 sejtarányok esetében a keringésből vett, köpet-, és bronchoscopos mintákban, azonban a Treg és Th2 sejtarányok a teljes asztmás csoportot egyben vizsgálva csak a bronchoscopos minták esetében tértek el szignifikánsan az egészségesek arányaitól. Az eredményeket ugyan árnyalhatta, hogy a betegek többsége kontrollált és kezelt volt, de a fenti vizsgálat alapján úgy tűnik, az indukált köpetminta asztmában elegendő sejtet biztosít a különböző lymphocytá szubpopulációk arányának meghatározásához (Hinks TS et al. Innate and adaptive T cells in asthmatic patients: Relationship to severity and disease mechanisms. J Allergy Clin Immunol. 2015;136:323-33). Másrészt, krónikus obstruktív tüdőbetegekben nemrégiben indukált köpet mRNS (RORC2 és FoxP3) expressziós vizsgálatával (tehát más módon) a Th17 és Treg sejtek egyensúlyvesztésére találtak bizonyítékot (Li H et al. Disruption of Th17/Treg balance in the sputum of patients with chronic obstructive pulmonary disease. Am J Med Sci. 2015;349:392-7).

Asztmás terhesség során indukált köpet vizsgálatáról irodalmi adat még nem áll rendelkezésre. Tekintettel azonban arra, hogy asztmában a légúti és keringő lymphocita arányok eltérhetnek, az észlelt értékeket a kezelés befolyásolhatja, továbbá az indukált köpet alkalmas a lymphocita szubpopulációk arányának vizsgálatára, egy ilyen kutatás körütekintő elvégzése, leginkább enyhe asztmában szenvedő terhesekben és izotóniás sóoldattal végezve, érdekes és teljesen új eredményeket hozhat.

Végezetül, még egyszer szeretném megköszönni Professzor asszonynak értekezésem bírálatát, elgondolkodtató, jövőbemutató és izgalmas kérdéseit, és azt, hogy értekezésem elfogadását és nyilvános vitára bocsátását javasolta.

Tisztelettel kérem válaszaim szíves elfogadását,



Dr. Tamási Lilla

Semmelweis Egyetem, Pulmonológiai Klinika

Budapest, 2017.08.28.